

EFEK ESTERIFIKASI GUGUS –OH SENYAWA 2,6-BIS (4-HIDROKSI-3-METOKSI-BENZILIDIN) SIKLOHEKSANON DAN 2,6-BIS (4-HIDROKSI-3,5-DIMETIL-BENZILIDIN) SIKLOHEKSANON TERHADAP *INHIBISI* PROTEIN TUBULIN HOMOLOG PADA ANTIKANKER DENGAN *MOLECULAR DOCKING PYRX*



Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I pada Jurusan Farmasi

Oleh:

DEDY PRIYATAMA

K100120034

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA**

2016

HALAMAN PERSETUJUAN

EFEK ESTERIFIKASI GUGUS –OH SENYAWA 2,6-BIS (4-HIDROKSI-3-METOKSI-BENZILIDIN) SIKLOHEKSANON DAN 2,6-BIS (4-HIDROKSI-3,5-DIMETIL-BENZILIDIN) SIKLOHEKSANON TERHADAP *INHIBISI* PROTEIN TUBULIN HOMOLOG PADA ANTIKANKER DENGAN *MOLECULAR DOCKING PYRX*

PUBLIKASI ILMIAH

oleh:

DEDY PRIYATAMA

K100120034

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Dosen Pembimbing



Dr. Muhammad Da'i, M.Si., Apt.

NIK. 832

HALAMAN PENGESAHAN

EFEK ESTERIFIKASI GUGUS –OH SENYAWA 2,6-BIS (4-HIDROKSI-3-METOKSI-BENZILIDIN) SIKLOHEKSANON DAN 2,6-BIS (4-HIDROKSI-3,5-DIMETIL-BENZILIDIN) SIKLOHEKSANON TERHADAP *INHIBISI* PROTEIN TUBULIN HOMOLOG PADA ANTIKANKER DENGAN *MOLECULAR DOCKING* PYRX

OLEH
DEDY PRIYATAMA
K100120034

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Pada hari Kamis, 22 Desember 2016
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dewan Penguji:

1. Broto Santoso, M.Sc., Apt.

(Ketua Dewan Penguji)

2. Wahyu Utami, Ph.D., Apt.

(Anggota I Dewan Penguji)

3. Dr. Muhammad Da'i, M.Si., Apt.

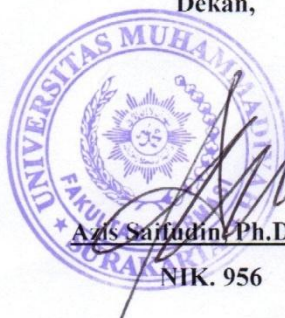
(Anggota II Dewan Penguji)

(.....)

(.....)

(.....)

Dekan,



Agis Saifuludin Ph.D., Apt.

NIK. 956

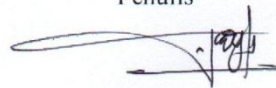
PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya orang lain yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya maupun pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali karya yang disebutkan dalam daftar pustaka sebagai acuan naskah ini.

Saya bersedia menerima sanksi sesuai peraturan yang berlaku apabila terbukti melakukan tindakan pemalsuan data maupun plagiasi.

Surakarta, 22 Desember 2016

Penulis



DEDY PRIYATAMA

K100120034

EFEK ESTERIFIKASI GUGUS *-OH* SENYAWA 2,6-BIS (4-HIDROKSI-3-METOKSI-BENZILIDIN) SIKLOHEKSANON DAN 2,6-BIS (4-HIDROKSI-3,5-DIMETIL-BENZILIDIN) SIKLOHEKSANON TERHADAP *INHIBISI* PROTEIN TUBULIN HOMOLOG PADA ANTIKANKER DENGAN *MOLECULAR DOCKING* PYRX

Abstrak

2,6-bis (4-hidroksi-3-metoksi-benzilidin) sikloheksanon dan 2,6-bis (4-hidroksi-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon merupakan turunan kurkumin yang memiliki potensi untuk inhibisi protein tubulin yang berperan dalam pembelahan sel. Namun, kedua senyawa tersebut memiliki polaritas yang buruk. Esterifikasi gugus *-OH* pada 2,6-bis (4-hidroksi-3-metoksi-benzilidin) sikloheksanon dan 2,6-bis (4-hidroksi-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon bertujuan untuk meningkatkan aktivitas inhibisi protein tubulin dan polaritasnya. Percobaan dilakukan dengan *molecular docking* menggunakan perangkat lunak *PyRx Vina-Autodock*, hasil *molecular docking* dianalisis menggunakan *PLIP* dan divisualisasikan menggunakan *PyMOL*. Protein homolog digunakan karena memiliki kemiripan 93,44% dengan protein tubulin dan mempunyai X-ray yaitu 2,2 Å. Senyawa 2,6-bis (4-asetiloksi-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon dari hasil esterifikasi memiliki polaritas yang lebih baik daripada senyawa aslinya. Melalui *molecular docking* ditunjukkan senyawa tersebut memiliki aktivitas tertinggi dalam penghambatan protein tubulin. Hasil *PLIP* dan *PyMOL* menunjukkan bahwa residu GLN36 dan ARG379 merupakan reseptor yang paling sering muncul dalam interaksi ligan-protein.

Kata kunci: 2,6-bis (4-hidroksi-3-metoksi-benzilidin) sikloheksanon, 2,6-bis (4-hidroksi-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon, protein tubulin homolog, *molecular docking*, *PyRx Vina-Autodock*.

Abstract

2,6-bis (4-hydroxy-3-methoxy-benzilidin) cyclohexanone and 2,6-bis (4-hydroxy-3,5-dimethyl-benzilidin) cyclohexanone are included in curcumin derivatives which has the potential for inhibition of tubulin proteins that play a role in cell fission. However, both of these compounds have a polarity that bad. Esterification of the *-OH group* on 2,6-bis (4-hydroxy-3-methoxy-benzilidin) cyclohexanone and 2,6-bis (4-hydroxy-3,5-dimethyl-benzilidin) cyclohexanone aims to increase the activity of the tubulin protein inhibition and polarity. The experiments were performed using a molecular docking software *PyRx Vina-Autodock*, the results of molecular docking were analyzed using *PLIP* and visualized with *PyMOL*. Homologous protein is used because it has a 93.44% similarity with the protein tubulin and have the X-ray is 2.2 Å. The compound of 2,6-bis (4-asetiloksi-3,5-dimethyl-benzilidin) cyclohexanone from esterification results has better polarity than the original compound. Through molecular docking was shown the compound has the highest activity of the tubulin protein inhibition. The results of *PLIP* and *PyMOL* showed that the residue GLN36 and ARG379 is the receptor that appears most frequently in the ligand-protein interactions.

Key words: 2,6-bis (4-hydroxy-3-methoxy-benzylidene) cyclohexanone, 2,6-bis (4-hydroxy-3,5-methyl-benzylidene) cyclohexanone, protein tubulin homologues, molecular docking, *PyRx Vina-Autodock*.

1. PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit dengan karakteristik gangguan atau kegagalan dalam pengaturan organisme multiseluler yang tidak terkendali. Menurut WHO, tingkat kematian akibat penyakit kanker di dunia diperkirakan mencapai 45% pada tahun 2007-2030 (Achmad et al. 2014). Tingkat kematian akibat penyakit kanker di Indonesia mencapai 1,4 per 1.000 penduduk pada tahun 2013 (Sitohang et al. 2014). Obat antikanker menggunakan bahan herbal semakin banyak dikembangkan, termasuk pengembangan obat dari senyawa kurkumin.

Kurkumin dapat diperoleh dari berbagai jenis genus *Curcuma* salah satunya dari tanaman kunyit (*Curcuma longa*). Kurkumin mempunyai aktivitas sebagai antiinflamasi, antioksidan, antiinfeksi, antivirus, penghambatan virus dan antioksidan (Eryanti dan Hendra 2006). Kurkumin dan analognya memiliki farmakokinetika buruk yang sangat sukar larut dalam air atau bersifat nonpolar yang cepat hilang dalam darah, sehingga tidak menguntungkan dalam sediaan oral (Nurrochmad et al. 2010). Analog kurkumin beberapa diantaranya 2,5-bis(4-hidroksi-3,5-dimetil-benzilidin) siklopentanon; 2,6-bis (4-hidroksi-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon; serta 1,5-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,4-pentadien-3-on.

Berdasarkan penelitian Suparjan (2004), modifikasi 2,6-bis (4-hidroksi-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon dapat dilakukan dengan reaksi esterifikasi dengan target gugus –OH. Esterifikasi analog kurkumin dilakukan untuk merubah polaritas senyawa menjadi lebih baik. Turunan analog kurkumin mempunyai aktivitas yang dapat menghambat proliferasi sel (Fitriasari et al. 2013). Proliferasi sel dipengaruhi oleh induksi apoptosis oleh senyawa antimikrotubulus yang berfungsi sebagai pemicu kematian sel terprogram (Da'i et al. 2007). Mikrotubulus terdiri dari protein tubulin yang tersusun rapi membentuk tabung (Chinen et al. 2015).

Protein yang berperan dalam polimerisasi mikrotubulus adalah protein tubulin. Protein tubulin penyusun mikrotubulus dibedakan menjadi 2 yaitu *alpha-tubulin* dan *beta-tubulin* (Chinen et al. 2015). Protein tubulin sudah banyak digunakan sebagai target perakitan atau dinamika untuk menentukan terapi antikanker dan penelitian biologi menggunakan metode *molecular docking*.

Penelitian tentang *metode docking* menggunakan senyawa analog kurkumin sudah pernah dilakukan oleh Santoso (2012) dengan target protein tubulin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode *docking* efisien dalam menggambarkan interaksi ligan dengan protein secara komputasi. Metode *docking* mempunyai potensi untuk penemuan senyawa baru.

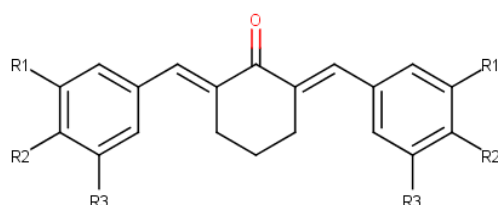
Senyawa 2,6-bis (4-hidroksi-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon memiliki potensi sebagai antiproliferasi sel yang menghambat pertumbuhan sel kanker. 2,6-bis (4-hidroksi-3,5-dimetil-

benzilidin) sikloheksanon memiliki karakteristik non polar sehingga perlu dimodifikasi untuk mendapatkan senyawa baru yang lebih polar. Modifikasi menggunakan anhidrida asetat melalui reaksi esterifikasi yang diharapkan mampu mendapatkan senyawa baru yang memiliki afinitas ligan protein yang lebih tinggi dalam menghambat protein tubulin pada antikanker dibandingkan dengan kurkumin menggunakan metode *docking*

2. METODE

Alat: Perangkat keras yang digunakan yaitu *notebook* dengan spesifikasi prosesor Intel (R) Core (TM) i3CPU M 380 @ 2,53 GHz, RAM 4GB, 64-bit Operating System. Perangkat lunak yang digunakan adalah *PyRx Vina-Autodock*, *MarvinBean Suite*, *PyMOL*, *PLIP* dan *Chimera*.

Bahan: Protein yang digunakan adalah protein homolog yang mirip dengan protein tubulin yaitu protein *5jqq.1.b*. Protein target yang digunakan didapatkan dengan mencocokkan fasta dari protein tubulin pada <https://swissmodel.expasy.org/> yang nantinya dipilih protein homolog terbaik dengan syarat *X-Ray Diffraction* yang berada pada resolusi kurang dari 2,5 Å. Fasta protein tubulin homolog dapat diunduh dari <https://www.ncbi.nlm.nih.gov> dengan kriteria pemilihan kata protein tubulin *beta-chain isoform a Homo sapiens*. Ligan pembanding yang digunakan adalah kurkumin, 2,6-bis (4-hidroksi-3-metoksi-benzilidin) sikloheksanon, 2,6-bis (4-hidroksi-3-metoksi-benzilidin) sikloheksanon, *MIMICs* yang didapatkan dari <http://mms.dsfarm.unipd.it/pepMMsMIMIC/>, serta obat antikanker yang sudah beredar dipasaran yaitu vinkristin dan vinblastin. Ligan uji yang digunakan adalah turunan analog kurkumin yaitu 2,6-bis (4-asetil-3-metoksi-benzilidin) sikloheksanon, 2,6-bis (4-asetil-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon pada yang telah dibuat dalam bentuk stuktur 3D dengan menggunakan *MarvinSketch*.



Kode Senyawa	R1	R2	R3	Log P *
2,6-bis (4-hidroksi-3-metoksi-benzilidin) sikloheksanon	-OCH3	-OH	H	4,67
2,6-bis (4-hidroksi-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon	-CH3	-OH	-CH3	7,04
2,6-bis (4-asetil-3-metoksi-benzilidin) sikloheksanon	- OCH3	H3CCOO-	H	4,50
2,6-bis (4-asetil-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon	-CH3	H3CCOO-	-CH3	6,87

Gambar 1. Struktur ligan uji. * *marvinsketch*

Validasi Metode Docking dilakukan untuk mencari konformasi 3D, dalam hal ini perlu dilakukan pencarian pusat masa, gridbox *vina*, LGA, GA dan SA. Penentuan pusat masa dari protein target dapat menggunakan pencarian melalui <https://projects.biotec.tu-dresden.de/metapocket/> kemudian hasil pencarian diolah menggunakan perangkat lunak *EditPlus*. Pencarian gridbox *vina*, LGA, GA, SA dilakukan menggunakan *PyRx Vina-Autodock*.

Docking Ligan Uji dilakukan menggunakan perangkat lunak *PyRx Vina-Autodock* dengan cara pengabungan protein dengan ligan uji, *decoys*, serta ligan pembanding yang akan menghasilkan nilai *binding energy*. *Binding energy* menunjukkan interaksi dari ligan uji terhadap protein. *Binding energy* yang menunjukkan penghambatan terbaik adalah data yang mempunyai nilai minus besar (semakin minus).

Analisis Data dilakukan dengan mengumpulkan hasil data *binding energy* masing-masing ligan uji dan ligan pembanding. Data interaksi ligan protein ditampilkan dengan menggunakan PyMOL dan PLIP sehingga dapat dilihat residu yang terlibat.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

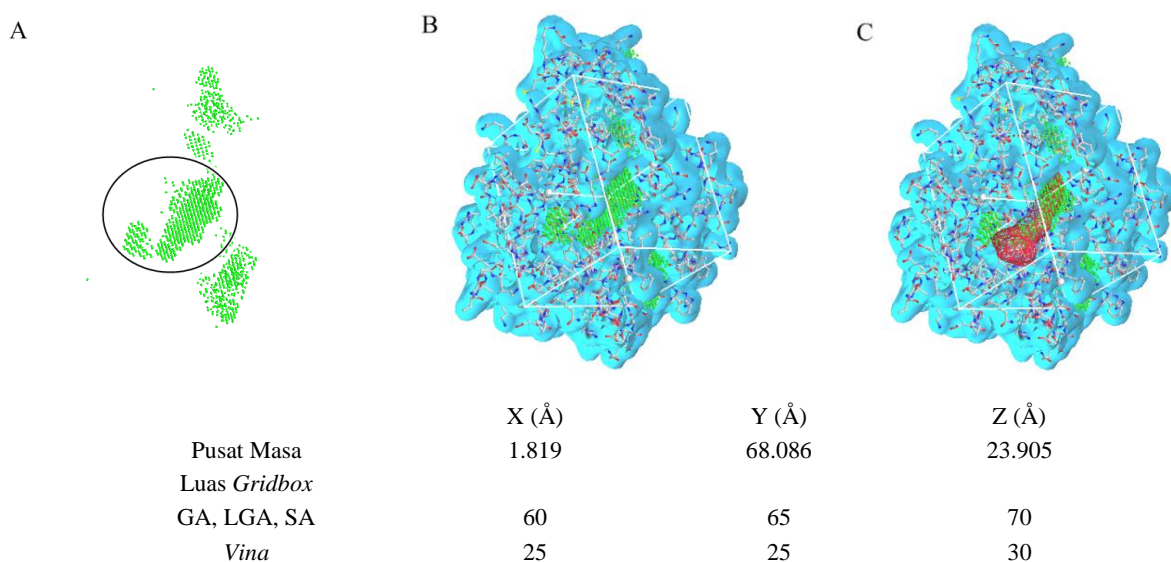
Preparasi dilakukan untuk menentukan protein yang akan digunakan dalam percobaan ini. Protein yang digunakan dalam penelitian ini adalah protein homolog dari protein tubulin. Protein tubulin homolog dipilih dalam percobaan ini karena senyawa homolog memiliki kriteria yaitu memiliki kesamaan rumus umum serta kemiripan interaksi dengan protein tubulin (Dadari & Novita 2012).

Tabel 1. Hasil pencarian protein tubulin homolog

Nama	Golongan	Kemiripan	Metode
5ij0.1.b	Tubulin beta-3 chain	93.63	EM
5jco.1.f	Tubulin beta-3 chain	93.44	EM, 4,0 Å
1ffx.1.b	Protein (Tubulin)	93.44	X-ray, 4,0 Å
3edl.1.e	Beta tubulin	93.44	EM
3edl.1.b	Beta tubulin	93.44	EM
1iao.1.b	Tubulin beta chain	93.44	EM, 15,0 Å
3jas.1.l	Tubulin beta chain	93.44	EM, 3,5 Å
3jao.1.b	Tubulin beta chain	93.44	EM
3jal.1.i	Tubulin beta chain	93.44	EM, 3,5 Å
3j7i.1.b	Tubulin beta chain	93.44	EM
5jqg.1.b	Tubulin beta chain	93.44	X-ray, 2,2 Å
5ijo.1.b	Tubulin beta-3 chain	90.59	EM
5ij9.1.b	Tubulin beta-3 chain	90.35	EM

Protein yang digunakan memiliki kriteria yaitu adalah protein *Homo Sapiens*, yang memiliki kemiripak lebih dari 90% dari protein tubulin dan memiliki nilai *X-Ray* kurang dari 2,5 Å. Hasil pencarian menggunakan pada <https://swissmodel.expasy.org/> didapatkan beberapa hasil seperti yang ditampilkan pada (Tabel 1). Percobaan ini menggunakan protein tubulin homolog dari pembuatan model protein template *5jqg.1.b* yang dipilih karena mempunyai kemiripan dengan protein tubulin sebesar 93,44% dan memenuhi syarat X-ray yaitu 2,2 Å yang menggambarkan letak koordinat dari atom hidrogen (Madhavan. 2006).

Validasi metode *docking* dilakukan untuk penentuan pusat masa, *gridbox vina*, LGA, GA, SA. Hasil dari pencarian <https://projects.biotec.tu-dresden.de/metapocket/> menunjukkan 5 hasil *binding pocket* teratas yang dimiliki oleh protein (Gambar 2). *Binding pocket* dengan volume terbesar ditunjukkan oleh lingkaran hitam pada gambar 2(A). Luas *binding pocket* yang digunakan adalah yang memiliki luas area yang paling besar untuk memudahkan ligan berikatan dengan protein. Semakin besar luas *binding pocket* maka akan semakin besar luas *gridbox* yang diperoleh. Luas *gridbox* akan mempengaruhi banyaknya asam amino yang dapat berikatan dengan protein.



Gambar 2. Penentuan *gridbox* metode *vina*, LGA, GA, SA. Warna hijau menunjukkan binding poket yang tersedia, biru menunjukkan protein, merah menunjukkan ligan.

Pengukuran *gridbox* diperoleh dengan memasukkan nilai pusat masa *vina* maupun *autodock* kemudian dilakukan pengukuran dengan parameter semua bagian protein harus masuk dalam kotak area dimensi seperti gambar 2(B). Gambar 2(C) menunjukkan ligan yang dapat masuk dalam *gridbox*, sehingga luas *gridbox* yang didapatkan sudah memenuhi syarat untuk digunakan dalam percobaan ini.

A. HASIL MOLECULAR DOCKING

Hasil *molecular docking* 2,6-bis (4-asetil-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon menggunakan *vina*, LGA, GA dan SA (Tabel 2) menunjukkan nilai *binding affinity/energy* yang paling kecil dari semua senyawa ligan yang diujikan, dari nilai tersebut dapat diketahui bahwa kekuatan ikatan dari ligan 2,6-bis (4-asetil-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon lebih baik untuk mengikat protein *5jqq.1.b*. Data yang dihasilkan adalah nilai dari ligan uji 2,6-bis (4-asetil-3-metoksi-benzilidin) sikloheksanon lebih kecil daripada ligan 2,6-bis (4-hidroksi-3-metoksi-benzilidin) sikloheksanon akan tetapi tidak lebih kecil daripada 2,6-bis (4-asetil-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon lebih kecil daripada 2,6-bis (4-hidroksi-3-metoksi-benzilidin) sikloheksanon. Ligan uji 2,6-bis (4-asetil-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon memperoleh nilai yang lebih baik daripada kurkumin yang menunjukan turunan analog kurkumin memiliki potensi penghambatan protein *5jqq.1.b* yang lebih baik daripada kurkumin. Hasil penelitian tentang turunan analog kurkumin oleh Da'i (2007) menunjukan bahwa protensi turunan analog kurkumin terhadap penghambatan pembelahan sel kanker lebih baik dibandingkan dengan kurkumin, hasil penelitian tersebut berbanding lurus dengan hasil *docking* yang dilakukan oleh Santoso (2012) dengan target protein tubulin yang mempertoleh hasil bahwa turunan analog kurkumin lebih baik daripada kurkumin

Tabel 2. Hasil *molecular docking binding energy* (kkal/mol) ligan uji

	<i>Vina</i>	LGA	GA	SA
Ligan uji 2,6-bis (4-asetiloksi-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon	-8,9	-9,42	-8,38	-4,96
2,6-bis (4-hidroksi-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon	-8,7	-7,97	-7,88	-4,88
Ligan uji 2,6-bis (4-asetiloksi-3-metoksi-benzilidin) sikloheksanon	-7,9	-9,06	-6,8	-4,29
2,6-bis (4-hidroksi-3-metoksi-benzilidin) sikloheksanon	-7,8	-7,75	-6,14	-4,0
Kurkumin	-7,4	-6,5	-5,68	-2,4
Vinkristin	-5,9	-4,31	-2,99	-2,4
Vinblastin	-6,1	-3,5	-2,32	-0,76

Efek esterifikasi pada 2,6-bis (4-hidroksi-3-metoksi-benzilidin) sikloheksanon dan 2,6-bis (4-hidroksi-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon menghasilkan 2,6-bis (4-asetil-3-metoksi-benzilidin) sikloheksanon dan 2,6-bis (4-asetil-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon yang lebih polar (Suwanti

2015), dengan nilai masing-masing log P 4,50 dan 6,87. Esterifikasi terhadap turunan analog kurkumin menunjukkan peningkatan yang lebih baik yang ditunjukkan dengan nilai *binding affinity/energy* terkecil mulai dari 2,6-bis (4-asetil-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon diikuti dengan 2,6-bis (4-hidroksi-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon, 2,6-bis (4-asetil-3-metoksi-benzilidin) sikloheksanon, 2,6-bis (4-hidroksi-3-metoksi-benzilidin) sikloheksanon, kurkumin yang dibandingkan dengan vinblastin dan vinkristin dengan menggunakan metode *vina*, LGA, GA, SA.

Obat antikanker vinblastin dan vinkristin mempunyai target protein tubulin sehingga digunakan sebagai pembanding dengan ligan uji (Madhavan 2006). Nilai *binding affinity/energy* dari vinkristin dan vinblastin pada Tabel 2 menunjukkan hasil yang lebih besar dibandingkan 2,6-bis (4-asetil-3-metoksi-benzilidin) sikloheksanon dan 2,6-bis (4-asetil-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon. Hasil data tersebut menunjukkan bahwa 2,6-bis (4-asetil-3-metoksi-benzilidin) sikloheksanon dan 2,6-bis (4-asetil-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon memiliki aktivitas inhibisi protein tubulin homolog *5jqq.1.b* yang lebih baik sehingga memiliki potensi untuk dibuat obat

Tabel 3. Hasil *molecular docking binding energy* (kkal/mol) ligan MIMICs

<i>Vina</i>	mms00239321, -9,6	mms02026604, -9,3	mms00157485, -9,2	mms00744768, -9,2	mms02990905, -9,2
LGA	mms01108351, -9,32	mms00029909, -8,91	mms00752529, -8,88	mms03835683, -8,23	mms01100774, -8,15
GA	mms00157485, -8,24	mms01108351, -8,22	mms03226507, -8,08	mms01100774, -7,85	mms01110710, -7,79
SA	mms03142106, -3,82	mms02883455, -3,72	mms00292400, -3,6	mms00157485, -3,57	mms01110710, -3,46

Hasil *molecular docking* Tabel 3 menggunakan metode SA aktivitas inhibitor ligan uji lebih poten karena nilai *binding affinity/energy* dari ligan uji lebih kecil daripada ligan MIMICs. Sebaliknya dengan menggunakan metode *vina*, LGA, dan GA nilai ligan MIMICs lebih kecil daripada nilai ligan uji yang menunjukkan ligan uji kurang poten. Dari 4 metode yang digunakan 1 metode menunjukkan bahwa ligan uji poten, sedangkan 3 metode lainnya menunjukkan bahwa ligan uji kurang poten, sehingga butuh penelitian lebih lanjut untuk menentukan kelayakan ligan uji.

Hasil PLIP dari *molecular docking* didapatkan residu yang sering berikatan dengan ligan yaitu ARG379, GLN36, PHE101, ASP46, VAL43, LYS37. Esterifikasi dari 2,6-bis (4-hidroksi-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon pada metode GA memunculkan kesamaan ikatan pada residu GLN36, PHE101 dan ARG379 (Tabel 4). Esterifikasi mengakibatkan peningkatan residu yang terikat dengan ligan, semakin banyak residu yang terikat semakin minus nilai *molecular docking*

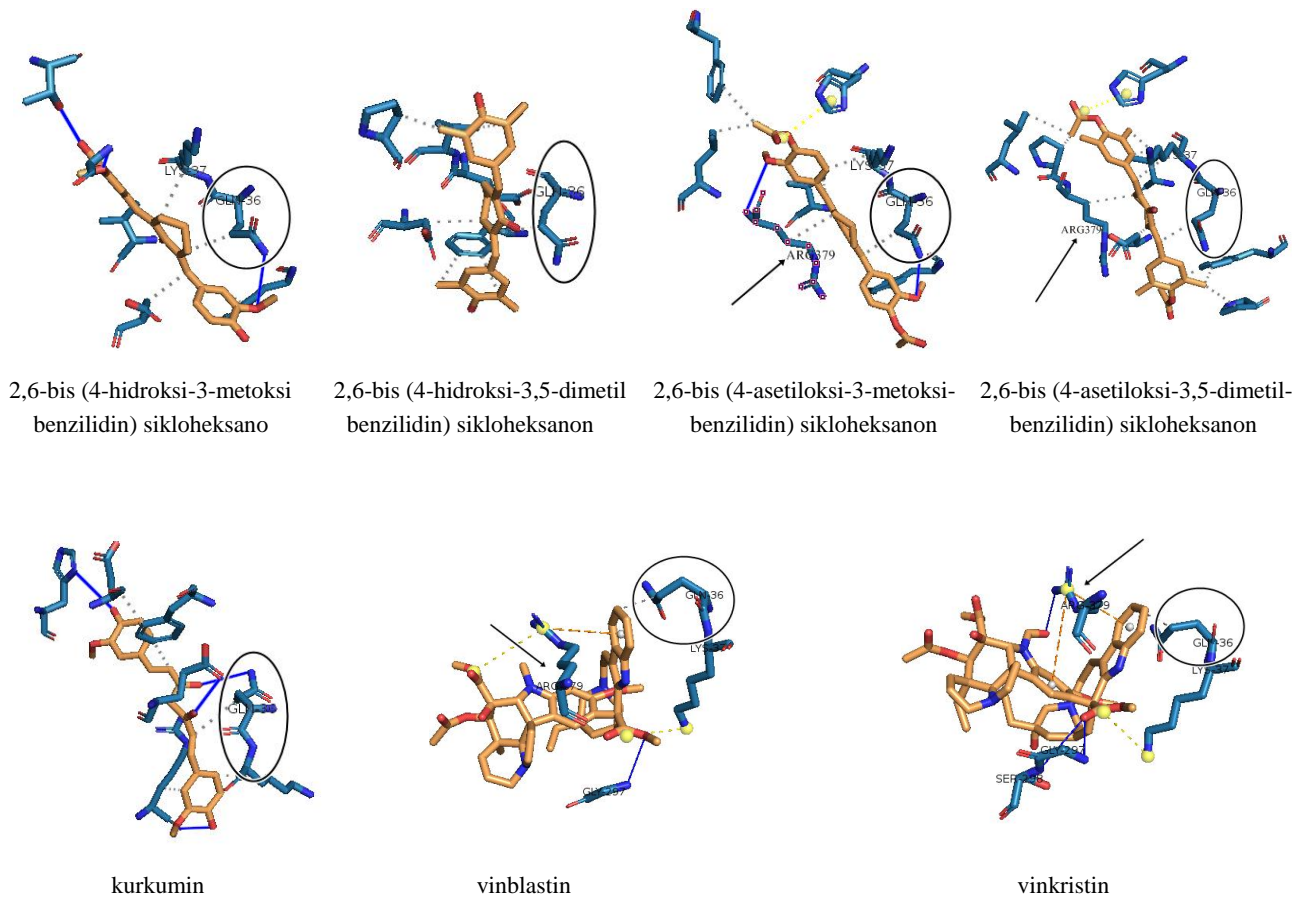
yang menunjukkan bahwa esterifikasi mempengaruhi kekuatan ikatan residu dengan ligan (Kartika et al. 2014).

Tabel 4. Ikatan residu yang terbentuk dari hasil *molecular docking*

	Vina	LGA	GA	SA
Ligan uji 2,6-bis (4-asetiloksi-3-metoksi-benzilidin) sikloheksanon	HI: <u>GLN36</u>, <u>LYS37</u>, <u>LEU381</u>, ALA251, PHE 290, HB: <u>GLN36</u> SB: HIS247 	HI: <u>GLN36</u>, <u>ARG379</u>,PHE101, <u>ASP46</u>, <u>LYS37</u>, <u>VAL43</u> GLU42, , PRO52, PHE290, PRO378, HB: <u>GLN36</u> SB: HIS247 	HI: <u>GLN36</u>, <u>ARG379</u>,PHE101, <u>LYS37</u>, <u>VAL43</u>, , LEU381, PHE290, HB: <u>GLN36</u>, <u>ARG379</u> SB: HIS247 	HI: <u>GLN36</u>, <u>ARG379</u>, PHE101, <u>ASP46</u>, <u>VAL43</u>, <u>LYS37</u>,GLU42, PRO52, PHE290, PRO378, HB: <u>GLN36</u> SB: HIS247
Ligan uji 2,6-bis (4-asetiloksi-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon	HI: <u>GLN36</u>, <u>ASP46</u>, <u>LEU381</u> SB: HIS247 PS: <u>PHE101</u> 	HI: <u>GLN36</u>, <u>ARG379</u>,PHE101, <u>ASP46</u>, <u>VAL43</u>, <u>LEU381</u> SB: HIS247 PS: <u>PHE101</u> PC: <u>ARG379</u> 	HI: <u>GLN36</u>, <u>ARG379</u>,PHE101, <u>LYS37</u>, <u>VAL43</u>, <u>ASP46</u>, PRO52, PRO378, <u>LEU381</u> HB: HIS247 	HI: <u>GLN36</u>, <u>ARG379</u>, PHE101, <u>ASP46</u>, <u>VAL43</u>, ALA251, ,<u>LEU381</u> HB: HIS247 PS: <u>PHE101</u> PC: <u>ARG379</u>
2,6-bis (4-hidroksi-3-metoksi-benzilidin) sikloheksanon	HI: <u>ARG379</u>, <u>LYS37</u>, <u>VAL43</u> HB: <u>GLN36</u> HIS247 	HI: <u>GLN36</u>, PHE101, <u>ASP46</u>, <u>LYS37</u>, GLU42, <u>VAL43</u>, ALA 251 HB: <u>GLN36</u> HIS247 	HI: <u>GLN36</u>, PHE101, <u>LYS37</u>, <u>VAL43</u>, <u>ASP46</u> HB: <u>GLN36</u>, THR294, GLY297 	HI: <u>GLN36</u>, PHE101, <u>ASP46</u>, <u>VAL43</u>, <u>LYS37</u>, GLU42, ALA251 HB: <u>GLN36</u>, HIS247
2,6-bis (4-hidroksi-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon	HI: <u>GLN36</u> HB: <u>ARG379</u> PS: <u>PHE101</u>	HI: <u>GLN36</u>, PHE101, <u>ASP46</u>, <u>VAL43</u>, GLU42, PRO378 	HI: GLU47, PRO377, ARG3379, LYS382 HB: <u>ASP46</u>, GLN36, GLN300 	HI: <u>GLN36</u>, PHE101, <u>ASP46</u>, <u>VAL43</u>, GLU42, PRO378
Kurkumin	HI: <u>ARG379</u>, <u>LYS37</u> HB: THR294, GLY297, SER298 PS: HIS247 	HI: <u>GLN36</u>, PHE101, <u>ASP46</u>, ALA251 HB: THR294 PS: HIS247 	HI: <u>GLN36</u>, <u>ARG379</u>,PHE101, <u>LYS37</u>, GLU42, ASP51, HB: <u>GLN36</u>, GLU42, HIS57, <u>ARG379</u> 	HI: <u>GLN36</u>, PHE 101, <u>ASP46</u>, ALA251 HB: THR294 PS: HIS247
Vinblastin	HI: ARG296 HB: GLY297, SER298 SB: <u>ARG379</u>, <u>LYS37</u>, 	HI: <u>ARG379</u>, PRO377 HB: GLY297, PRO377 	HI: <u>GLN36</u> HB: GLY297 SB: <u>ARG379</u>, <u>LYS37</u> PC: <u>ARG379</u> 	HI: <u>ARG379</u>, PRO377 HB: GLY297, PRO377
Vinkristin	HI: TYR301 HB: GLN300, LYS382 SB: <u>ARG379</u>, LYS382 	HI: <u>GLN36</u>, <u>LYS37</u> HB: <u>ARG379</u>, GLY297 SB: <u>ARG379</u>, <u>LYS37</u>, 	HI: <u>GLN36</u> HB: <u>ARG379</u>, GLY297, SER298, SB: <u>LYS37</u> PC: <u>ARG379</u> 	HI: <u>GLN36</u>, <u>LYS37</u> HB: <u>ARG379</u>, GLY297 SB: <u>ARG379</u>, <u>LYS37</u>

Keterangan: Residu yang bergaris bawah merupakan yang terikat dengan ligan menggunakan keempat metode, sedangkan yang berhuruf tebal merupakan residu yang terikat pada semua ligan dengan masing masing metode.

Residu ARG379 dapat berikatan dengan vinblastin maupun vinkristin menggunakan semua metode pada *PyRx Vina-Autodock*. Seperti yang telah dijelaskan pada penelitian yang dilakukan oleh Gupta (2006) bahwa vinblastin dan vinkristin memiliki aktivitas sebagai inhibitor protein tubulin. Hasil visualisasi yang menunjukkan bahwa ARG379 merupakan residu yang selalu terikat dengan vinblastin dan vinkristin sehingga dapat dipastikan bahwa residu ARG379 memiliki peran penting dalam penghambatan protein tubulin.

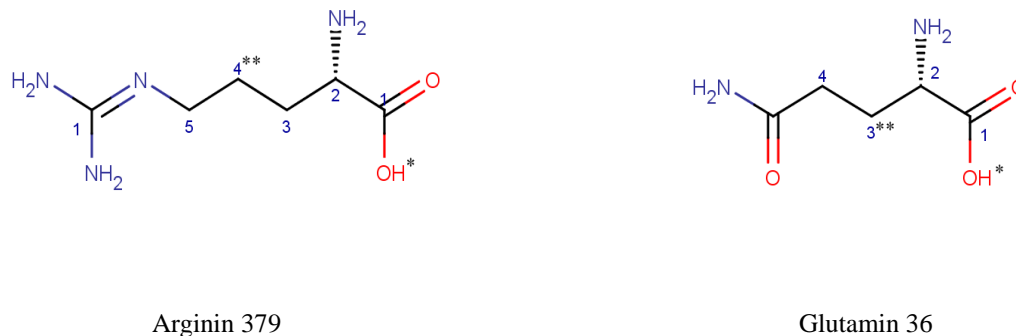


Keterangan : Lingkaran hitam menunjukkan ikatan residu GLN36, anak panah menunjukkan ikatan ARG379, garis lurus berwarna biru menunjukkan ikatan hidrogen, garis titik titik menunjukkan ikatan hidrofobik, garis putus putus berwarna kuning menunjukkan ikatan jembatan garam, garis putus putus berwarna abu abu menunjukkan pi-stacking. Garis putus putus berwarna orange menunjukkan pi-cation.

Gambar 3. Visualisasi PyMOL

Residu GLN36 memiliki ikatan yang kuat dengan ligan uji. Hampir semua ligan uji mempunyai ikatan dengan residu GLN36, akan tetapi ikatan dengan residu ARG379 tidak selalu terjadi. Esterifikasi ligan uji pada metode *vina* mengakibatkan hilangnya ikatan residu ARG379 terhadap ligan, sedangkan pada metode LGA, GA, dan SA efek esterifikasi menghasilkan ikatan ligan dengan residu ARG379 yang sebelumnya tidak terjadi. Ikatan ligan dengan residu ARG379 pada protein menunjukkan kesamaan interaksi inhibisi dari vinblastin dan vinkristin dengan ligan uji sedangkan ikatan dengan residu GLN36 menunjukkan bahwa ligan uji memiliki interaksi yang kuat

terhadap residu GLN36 sehingga residu ARG379 dan GLN36 dapat digunakan sebagai target penghambatan protein tubulin yang baik.



Keterangan: * atom C pada asam amino yang berikatan pada ligan, ** atom O yang berikatan pada ligan.

Gambar 4. Hasil visualisasi asam amino

Diperlukan *binding group* yang optimal untuk dapat berikatan glutamin dengan kondisi hidrofobik maupun hidrofilik yang tepat (Glusker et al. 1999). Residu ARG379 pada atom C nomer 4 dan residu GLN36 pada atom C nomer 3 dapat berikatan dengan ligan yang membentuk ikatan hidrofobik, sedangkan interaksi atom O yang terikat pada C1 residu ARG379 dan GLN36 dengan ligan membentuk ikatan hidrogen (Gambar 4).

4. PENUTUP

Kesimpulan: Esterifikasi senyawa 2,6-bis (4-hidroksi-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon menjadi 2,6-bis (4-asetiloksi-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon menimbulkan perubahan log P 7,04 menjadi 6,87 yang bersifat lebih polar. 2,6-bis (4-asetiloksi-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon memiliki *binding energy* terkecil menggunakan metode *vina*, LGA, GA, SA dengan nilai -8,2, -6,94, -6,54, -3,55 yang diikuti senyawa 2,6-bis (4-hidroksi-3-metoksi-benzilidin) sikloheksanon, 2,6-bis (4-asetiloksi-3-metoksi-benzilidin) sikloheksanon, 2,6-bis (4-hidroksi-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon, kurkumin, vinkristin, dan vinblastin. Esterifikasi senyawa 2,6-bis (4-hidroksi-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon meningkatkan jumlah ikatan yang terjadi dengan residu, residu yang berperan dalam penghambatan protein tubulin adalah GLN36 dan ARG379.

Saran: Penelitian menggunakan *molecular docking* merupakan tahap prediksi dalam penentuan senyawa obat baru, maka dari itu diperlukan uji sitotoksik dari ligan uji untuk memastikan kelayakan dari 2,6-bis (4-asetil-3-metoksi-benzilidin) sikloheksanon dan 2,6-bis (4-asetil-3,5-dimetil-benzilidin) sikloheksanon sebagai obat antikanker yang baru.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, H., Armyan, S.A., dan Singgih, M.F., 2014. Anti-Cancer Activity And Anti-Proliferation Ant Nests Flavonoid Fraction Test (Myrmecodya Pendans) Human Tongue Cancer Cells In Sp-C1. *Journal of Dental and Medical Sciences*. 13, 1–5.
- Campbell, N.A., Reece, J.B., dan Mitchell, L.G., 2002. *Biologi, 5th ed.* Erlangga. 223-225, Jakarta.
- Campbell, N.A., Reece, J.B., Urry, L.A., Cain, M.L., Wasserman, S.A., Minorsky, P. V., dan Jackson, R.B., 2010. *Biologi, 8th ed.* Erlangga. 244-260, Jakarta.
- Chakraborti, S., Das, L., Kapoor, N., Das, A., Dwivedi, V., Poddar, A., Chakraborti, G., Janik, M., Basu, G., Panda, D., Chakrabarti, P., Surolia, A., dan Bhattacharyya, B., 2011. Curcumin Recognizes a Unique Binding Site of Tubulin. *Journal of Medicinal Chemistry*, 54(18), 0022–2623.
- Chinen, T., Liu, P., Shioda, S., Pagel, J., Cerikan, B., Lin, T., Gruss, O., Hayashi, Y., Takeno, H., Shima, T., Okada, Y., Hayakawa, I., Hayashi, Y., Kigoshi, H., Usui, T., dan Schiebel, E., 2015. The γ -tubulin-specific inhibitor gatastatin reveals temporal requirements of microtubule nucleation during the cell cycle. *Nature Communication*. 6, 8722.
- Da'i, M., Meiyanto, E., Suparjan, A.M., Jenie, U.A., dan Kawaichi, M., 2007. Potensi Antiproliferative Analog Kurkumin Pentagamavunon Terhadap Sel Kanker Payudara T47D*). *Artocarpus*. 7, 14–20.
- Dadari, D.W. dan Novita, D., 2012. Analisis Tes Hasil Belajar Siswa Melalui Media Pembelajaran Blog Pada Materi Alkana, Alkena, dan Alkuna. *Unesa Journal of Chemical Education*, 1(1), 70–75.
- Eryanti, Y., dan Hendra, R., 2006. Sintesis Beberapa Turunan Kurkumin. *Jurnal Kimia*. 1–6.
- Fitriasari, A., Wijayanti, N.K., Ismiyati, N., Dewi, D., Kundarto, W., Sudarmanto, B.S.A., dan Meiyanto, E., 2013. Studi Potensi Kurkumin Dan Analognya Sebagai Selective Estrogen Receptor Modulator (SERMs): Docking Pada Reseptor Estrogen β . *PHARMACON*. 53, 1689–1699.
- Glusker, J.P., Katz, A.K., dan Bock, C.W., 1999. Metal Ions in Biological Systems. *The Rigaku Journal*, 16(2), 8–17.
- Gupta, K.K., Bharne, S.S., Rathinasamy, K., dan Naik, N.R., 2006. Dietary Antioxidant Curcumin Inhibits Microtubule Assembly Through Tubulin Binding. *FEBS Journal*, 273, 5320–5332.
- Kartika, D.L.N., Purwonugroho, D., dan Khunur, M.M., 2014. Modifikasi Gugus Aktif Permukaan Biomassa Azolla microphylla Melalui Reaksi Esterifikasi dengan Asam Sitrat. *Kimia Student Journal*, 2(2), 527–533.
- Madhavan, G., 2006. *Bioinformatics: A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins* 2nd ed. A. D. Baxevanis & B. F. F. Ouellette, eds., USA. 6, 86-97.
- Meiyanto, E., Da'i, M., dan Agustina, D., 2006. Efek Antiproliferatif Pentagamavunon-0 terhadap Sel Kanker Payudara T47D *). *Jurnal Kedokteran Yarsi*. 14, 11–15.
- Mukesh, B., dan Rakesh, K., 2011. Molecular Docking: A Review. *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy*. 2, 1746–1751.

- Nurrochmad, A., Hakim Rahman, A., Amir Margono, S., Sarjiman., dan Yuniarti, N., 2010. Evaluation of Hepatoprotective and Antioxidant Activity of Hexagamavunon - 1 Against Carbon Tetrachloride - Induced Hepatic Injury in Rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2, 3–6.
- Santoso, B., 2012. Docking Analog Kurkumin Turunan Piperazindion dengan Tubulin (1TUB) Rantai β Menggunakan Vina dan Autodock. *PHARMACON*. 12, 14–18.
- Sitohang, V., Budijanto, D., Hardhana, B., dan Soenardi, T.A., 2014. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2013*. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 1, 164-166 .
- Suparjan, A.M., Pudjono, dan Monika, 2004. Sintesis Diasetil Heksagamavunon-1 dengan Katalis Basa. *PHARMACON*. 5, 48–55.
- Suwanti, I.S., 2015. Sintesis dan Uji Antioksidan Senyawa Tetrahidro pentagamavunon-5 dengan Metode Penangkapan Radikal DPPH dan Reduksi Ion Feri. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada. 1-12.